NUOVI STUDI
DELLA
STAZIONE CHIMICO - AGRARIA SPERIMENTALE DI UDINE

PUBBLICAZIONE N. 97

Dott. ALDO GIGLIOTTI

IL CONTENUTO IN METANOLO DEI VINI FRIULANI NELLA VENDEMMIA DEL 1965

NUOVI STUDI
DELLA
STAZIONE CHIMICO - AGRARIA SPERIMENTALE DI UDINE

PUBBLICAZIONE N. 97

Dott. ALDO GIGLIOTTI

IL CONTENUTO IN METANOLO DEI VINI FRIULANI NELLA VENDEMMIA DEL 1965

STUDIO ESEGUITO CON I CONTRIBUTI FINANZIARI DELLA
REGIONE FRIULI VENEZIA GIULIA

Arti Grafiche Friulane - Udine - 1968

IL CONTENUTO IN METANOLO DEI VINI FRIULANI NELLA VENDEMMIA 1965

Il decreto ministeriale 12 Febbraio 1965 n. 162 ponendo dei limiti al contenuto in determinate sostanze, ha creato nel campo enologico un certo fermento.

Ciò si è verificato particolarmente per l'alcole metilico i cui limiti: 0.20 ml per 100 ml di alcole etilico per i vini bianchi e 0.25 per i vini rossi, sono stati oggetto di critiche da parte dei vinificatori.

In particolare le obbiezioni che si possono rivolgere ai massimi consentiti dalla legge si possono condensare nei due quesiti seguenti:

— sono validi i limiti dello 0.20 e 0.25 in alcole metilico per tutti i vini genuini, anche in annate particolarmente sfavorevoli, e qualora vengano adottate le tecniche più recenti di vinificazione ad alte rese?

— è il metodo ufficiale di determinazione dell'alcole metilico sufficientemente preciso da non dar luogo a errori di dosaggio con le conseguenze che ne derivano?

Appare logico che la risposta alla prima domanda può essere data soltanto da una sperimentazione collettiva, eseguita nelle differenti regioni italiane e, in annate successive, su vini sicuramente genuini e provenienti da uve vinificate con tecniche tradizionali e non.

Per rispondere al secondo quesito è necessario analizzare il metodo in ogni particolare, confrontandolo con tecniche analitiche più recenti. Mentre questo studio critico sarà oggetto, a coronamento di una sperimentazione iniziata nel 1964, di successivi lavori, si è voluto con la presente nota illustrare i dati relativi al contenuto in metilico nei vini friulani nella vendemmia 1965 e fare alcune considerazioni sulla determinazione dell'alcole metilico secondo i metodi ufficiali.

Considerazioni generali

La tossicità pura dell'alcole metilico è ancor oggi oggetto di controversie e la dose tossica mortale non è ancora definita. Si è accertato soltanto che il metanolo è più tossico dell'etanolo, sia se preso puro, sia se ingerito assieme ad altre sostanze che ne aumentano gli effetti dannosi, come avviene nelle bevande. Si è accertato che da 30 a 100 g assorbiti in breve tempo causano il decesso, ma affermare che disturbi di natura tossica intervengono con dosi di 8 g (1) e in base a questo dato e al contenuto in metilico delle bevande, calcolare il numero di litri che causano turbe tossiche nell'organismo, è quanto meno semplicistico.

Molti autori tra cui il Dérobert (2) citano numerosi casi di disturbi tossici rilevati con dosi molto inferiori a quelle sopra menzionate. Niclaux e Placet hanno appurato che il tempo di eliminazione del CH_3OH è molto più elevato del tempo di eliminazione del C_2H_5OH. Pohl ha emesso l'ipotesi che il CH_3OH si ossidi ad aldeide formica e questa ad acido formico, donde l'acidosi che è causa di morte.

In realtà soltanto l'Egg è riuscito recentemente a spiegare il fenomeno della assai varia suscettibilità individuale, e quindi le diverse soglie di tossicità. Secondo questo autore l'alcole metilico, agendo analogamente all'aldeide formica, blocca il *fermento respiratorio di Warburg,* rallentando così le ossidazioni cellulari nel loro complesso. Poichè ciascun organismo possiede una propria facoltà di ossidazione, questo spiega la diversa reattività individuale.

La dose MAC (maximum allowable concentration) ammessa negli Stati Uniti è di 200 ppm (3). A questo proposito però non va dimenticato che il vino è tra i prodotti che contengono meno alcole metilico, e che i primi posti nella graduatoria sono occupati dai distillati. Alcuni succhi di frutta, quali quello di ribes nero, possono raggiungere dosi di 640 mg/L (4), tre volte il contenuto normale dei vini. Si comprende quindi come il problema del contenuto in alcole metilico, nei riguardi dei suo effetti tossici, sia stato notevolmente ridimensionato in considerazione del fatto che difficilmente i vini, ottenuti con tecniche di vinificazione tradizionali, raggiungono dosi elevate. Soltanto i sopratorchiati ed i vini di feccia, analizzati nel nostro laboratorio, hanno nettamente superato i limiti dello 0.20 e dello 0.25, fino a raggiungere livelli dello 0.500 e oltre. In ogni caso si tratta di particolari sottoprodotti della vinificazione ottenuti con pratiche industriali che mirano a sfruttare al massimo le vinacce e le fecce.

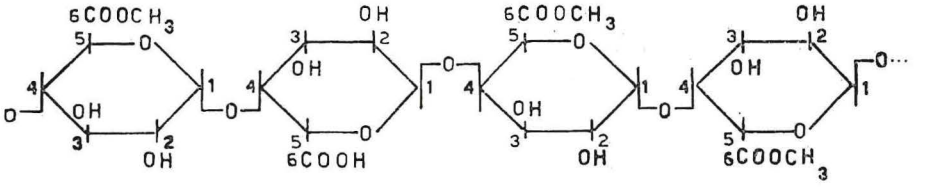
Vi è però un altro aspetto del contenuto in metilico che è intimamente legato alla tecnologia dei vini. Il metanolo può essere preso a indice della attività della *pectin-metil-esterasi* sui costituenti pectici dei mosti (5), e non si deve dimenticare che le pectine, per quanto non an-

cora molto si conosca di queste sostanze, sono di primaria importanza ai fini della stabilizzazione dei vini, poichè come colloidi sono legate ai fenomeni di intorbidamento, di chiarificazione e di filtrazione.

Per comprendere il meccanismo di formazione del metilico, sarà opportuno esporre qui di seguito quanto si sa fino ad oggi di questo processo.

Secondo Bravermann (6) la pectina si trova sotto forma di protopectina nel frutto nel cui tessuto occupa gli spazi intercellulari, e come la cellulosa è insolubile in acqua. Durante la maturazione, ad opera dell'enzima *protopectinasi,* viene trasformata in pectina solubile. Quest'ultima è un colloide liofilo reversibile e può essere considerata, secondo gli studi di Schneider (7), una lunga catena di acidi poligalatturonici parzialmente esterificati con alcole metilico, in altre parole con struttura analoga alla cellulosa (condensazione tra l'ossidrile del C_1 e quello legato al C_4 della molecola successiva) con la differenza, rispetto alla cellulosa, che i nuclei sono costituiti da acido galatturonico (C_6 del galattosio ossidato a carbossile) invece che da glucosio.

STRUTTURA DELLA PECTINA



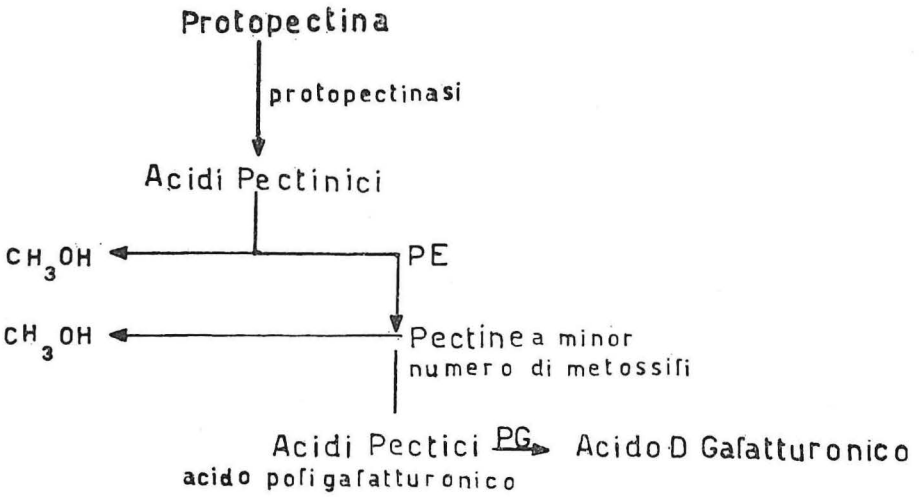
Alcuni autori sostengono che la protopectina è legata alla cellulosa nella cellula del tessuto vegetale, e che la *protopectinasi* la distacca da quest'ultima e la trasforma nel colloide liofilo, che noi attualmente chiamiamo pectina.

L'enzima, che più interessa dal punto di vista dell'origine dell'alcole metilico è però la *pectin-metil-esterasi* o *pectin-esterasi* (PE), che catalizza l'idrolisi del gruppo metilico dal radicale acido.

La PE agisce di preferenza quando una unità $COO\ CH_3$ è adiacente ad un carbossile non esterificato, e questo presuppone la non completa metilazione della catena poligalatturonica. La sua attività è esaltata dalla concentrazione salina del mezzo, che ne abbassa l'optimum dal pH 7.5-8 ai pH inferiori. Questo è valido per le *pectin-esterasi* presenti nei vegetali superiori, poichè recentemente il Marteau (8) ha dimostrato che l'optimum delle PE presenti nelle uve è situato intorno al pH 5.

L'acido pectico, che risulta dalla idrolisi dei gruppi — COO CH_3, è il substrato su cui agisce un enzima la *poligalatturonasi* che catalizza la rottura del legame 1 : 4, portando alla formazione di unità singole di acido D galatturonico. L'azione degli enzimi sulle uve può essere schematizzata come segue:

SCHEMA DI AZIONE DEGLI ENZIMI DELL'UVA



L'ipotesi originaria del Fellenberg, che il metanolo trae origine dalla idrolisi enzimatica delle sostanze pectiche, è stata confermata da tutta una serie di esperienze. Bertrand e Silberstein (9) hanno messo in luce come i vini rossi hanno contenuti nettamente superiori ai vini bianchi; Francot e Geoffroy (10) hanno trovato che i vini ibridi contenevano quantità di metilico superiori ai vini di *vitis vinifera,* fino a 350 mg/L.

Più recentemente Flanzy e Loisel (11) hanno attirato l'attenzione sull'influenza della macerazione sul contenuto in alcole metilico dei vini.

In un lavoro successivo Flanzy, in collaborazione con Bouzigues (12), sottolineava ancora l'influenza delle parti solide dell'uva sullo sviluppo del metanolo, nonchè delle aggiunte di metabisolfito ai mosti, mentre la fermentazione alcolica era apparentemente senza effetto sullo aumento del metanolo.

Uno studio completo della cinetica della idrolisi e quindi della liberazione dell'alcole metilico dalle sostanze pectiche, è stato compiuto recentemente da Marteau, Scheur e Olivieri. Questi autori hanno confer-

mato l'influenza delle parti solide della vendemmia (bucce, vinacciuoli e graspi) e l'andamento tipicamente enzimatico della liberazione del metanolo: il mosto riscaldato a 80° C non ha rivelato infatti nessun aumento di CH_3OH nel tempo. In definitiva il tenore massimo in metanolo di un mosto è funzione del tempo di contatto del sugo con le parti solide.

Nel caso dei mosti fermentati in bianco Marteau ha messo in evidenza il livello massimo di metanolo, o *tasso limite,* oltre cui non si ha più aumento di metanolo nel tempo. Nel caso della presenza delle bucce nel medesimo mosto (fermentazione in rosso), la differenza tra il tasso in metanolo al tempo t e quello massimo o *tasso limite* sopra menzionato, è proporzionale alla quantità di pectine solubilizzate. Da questa esperienza balza evidente un metodo di misura della attività enzimatica della *pectin-metil-esterasi* basata sul dosaggio del metanolo.

Prelevamenti

L'indagine svolta sui vini della vendemmia 1965 è stata condotta su un centinaio di campioni, raccolti per la maggior parte presso piccoli produttori, per quanto riguarda la zona collinare dei vini più pregiati, e presso aziende ed enopoli nelle zone di pianura.

Per i vini bianchi (Tocai, Pinot bianco, Pinot grigio, Verduzzo) la vinificazione è stata condotta in linea di massima in bianco, direttamente dopo pigiatura, diraspamento e torchiatura con torchio tradizionale, mentre per i vini rossi la fermentazione, a contatto con le vinacce, è stata prolungata da un minimo di 24 ore presso i piccoli proprietari, a un massimo di 6-7 giorni nelle cantine sociali. In queste ultime sono state impiegate dosi abbastanza elevate di anidride solforosa liquida, che ha permesso di limitare i danni provocati dalle uve guaste, mentre nelle piccole cantine è stata data una dose massima di 10-12 g di metabisolfito, parte sulle uve, parte sul mosto.

I trattamenti a base di SO_2 si sono rivelati in effetti indispensabili, a causa della notevole percentuale di uve ammuffite e guaste.

L'andamento meteorico stagionale è stato particolarmente infelice, con piogge persistenti e abbassamenti di temperatura, che hanno ostacolato la regolare maturazione dell'uva e favorito, un pò in tutto il Friuli, attacchi di oidio e peronospora. Si sono ottenuti quasi ovunque, anche nelle zone collinari, mosti poco zuccherini, molto acidi, deficienti di colore.

In considerazione del particolare andamento stagionale, il rilevamento del metanolo nell'annata 1965 acquista particolare rilievo.

Il contenuto in SO_2 dei campioni provenienti dalle cantine sociali era intorno a 100 mg/L; nei vini finiti provenienti da piccole proprietà, ha raramente superato i 20-30 mg/L, dosi, come si vede, minime.

Secondo Kertesz (13) il metabisolfito di Na aumenta l'attività della *pectin-metil-esterasi* e quindi la demetilazione delle sostanze pectiche. Dello stesso avviso sono il Flanzy e il Bouzigues (12), e non è improbabile una certa correlazione tra le tecniche di vinificazione, che suggeriscono l'uso di forti dosi di SO_2 per meglio favorire la dissoluzione della materia colorante, e gli alti contenuti in metanolo.

Su gran parte dei campioni si sono eseguite tutte le determinazioni comuni, su tutti si sono determinati l'alcole per distillazione, gli zuccheri riduttori (quasi tutti i vini friulani, escluso il Ramandolo, sono secchi), l'estratto, l'anidride solforosa ed il contenuto in metanolo.

Osservazioni sul metodo

Per quanto riguarda la determinazione dell'alcole metilico, ci si è attenuti ai *metodi ufficiali di analisi* (14), sfruttando la reazione colorata che si forma tra la fucsina solfitata (reattivo di Schiff) e l'aldeide formica. Il reattivo era preparato in laboratorio con fucsina purissima (tra le varie marche la BDH è risultata più costante) sciolta a caldo su bagno-maria, lasciata in riposo per 4 giorni, aggiunta di 200 mg di carbone attivato e filtrata attraverso crogiuolo filtrante G3 dopo altri 2 giorni.

Nella preparazione delle curve standard ci si è serviti di 2 serie di campioni (curva I e curva II), utilizzando l'una o l'altra a seconda della percentuale di alcole metilico nel vino da analizzare.

Con ciò si è cercato di spingere al massimo la precisione del metodo. In realtà si è giudicato opportuno dare la 3ª cifra del tenore in metanolo, espresso in ml% di alcole etilico, in considerazione del fatto che tutti i dati erano controllati con il metodo dell'acido cromotropico nello stesso modo che sarà illustrato in un lavoro successivo.

Le soluzioni A e B erano le medesime descritte nei metodi ufficiali e le due serie di soluzioni erano le seguenti:

CURVA I

N°	ml di CH_3OH % ml di C_2H_5OH	ml di soluzione A
1	0.050	0.45
2	0.080	0.72
3	0.120	1.08
4	0.150	1.35
5	0.180	1.62
6	0.200	1.80
7	0.220	1.98
8	0.250	2.25
9	0.280	2.52
10	0.300	2.70

CURVA II

N°	ml di CH_3OH % ml di C_2H_5OH	ml di soluzione A
1	0.200	1.80
2	0.250	2.25
3	0.300	2.70
4	0.350	3.15
5	0.400	3.60
6	0.450	4.05
7	0.500	4.50
8	0.550	4.95
9	0.600	5.40
10	0.650	5.85

Il tempo di ossidazione di 2' è stato portato a 4' poichè, anche in condizioni di standardizzazione massima (leggera agitazione delle provette, temperatura termostatata, costanza di reattivi, precisione dei tempi), i valori di CH_3OH maggiori (rapporto $\frac{CH_3OH}{C_2H_5OH}$ elevato) non

sono risultati, nonostante il numero enorme di prove eseguite, assolutamente costanti e ripetibili, col tempo di 2' suggerito dai metodi ufficiali, come compare dal grafico di figura 1.

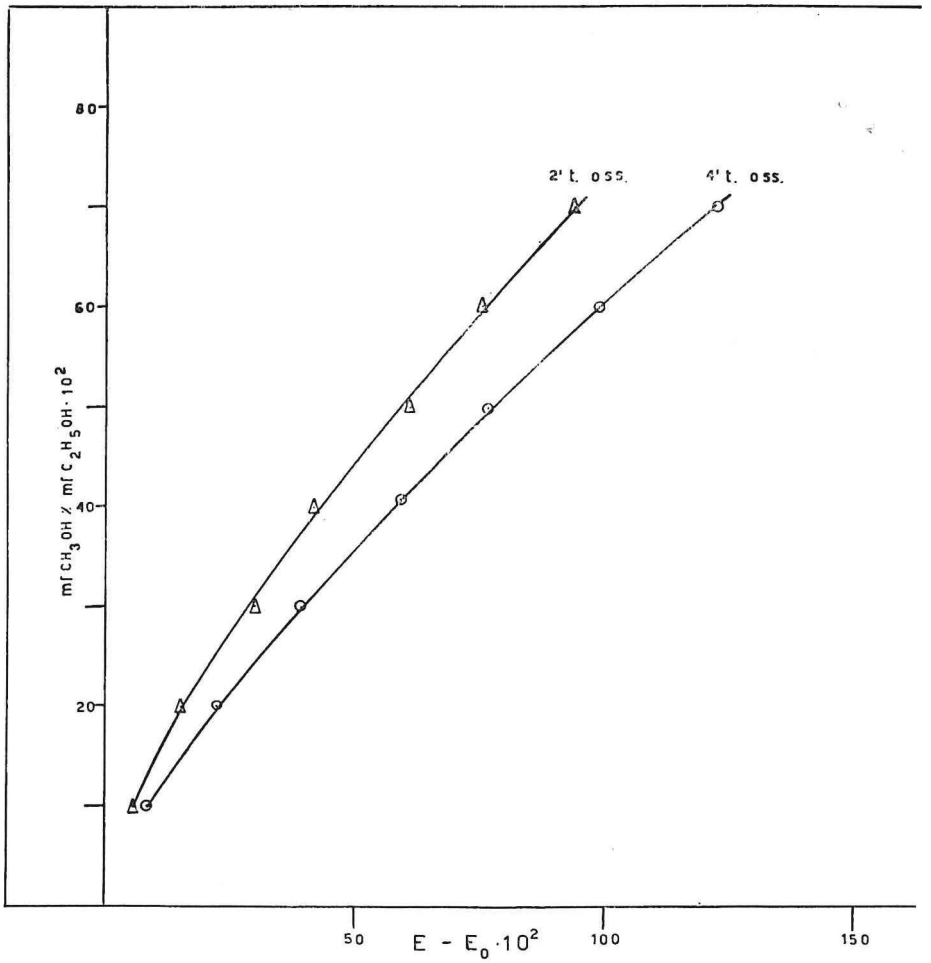


Figura 1 - INFLUENZA DEI TEMPI DI OSSIDAZIONE

○ : dati ottenuti a 20°C, tempo di ossidazione 4'

△ : dati ottenuti a 20°C, tempo di ossidazione 2'

In realtà il tempo è fattore d'importanza fondamentale nella reazione di Denigés.

Nel grafico di figura 2 sono riportati in ascissa i tempi di ossidazione e in ordinata le estinzioni per due soluzioni: 0.300 e 0.600 ml di

CH_3OH % ml di C_2H_5OH. Si è operata l'ossidazione per tempi crescenti da 2' a 30' e, come si può constatare dal grafico, i valori inferiori ai 4' non sono affatto stabili (linee tratteggiate del grafico di fig. 2).

Ciò può essere messo in relazione al fatto che l'ossidazione in ambiente acido per H_2SO_4, catalizzata dagli ioni $Mn^{\cdot\cdot}$, non arriva ad ossidare, per tempi inferiori ai 2', quantità costanti di CH_3OH a CH_2O, e ciò è ancora più evidente per i rapporti più elevati di $\frac{CH_3OH}{C_2H_5OH}$ come è messo in evidenza per la soluzione 0.600.

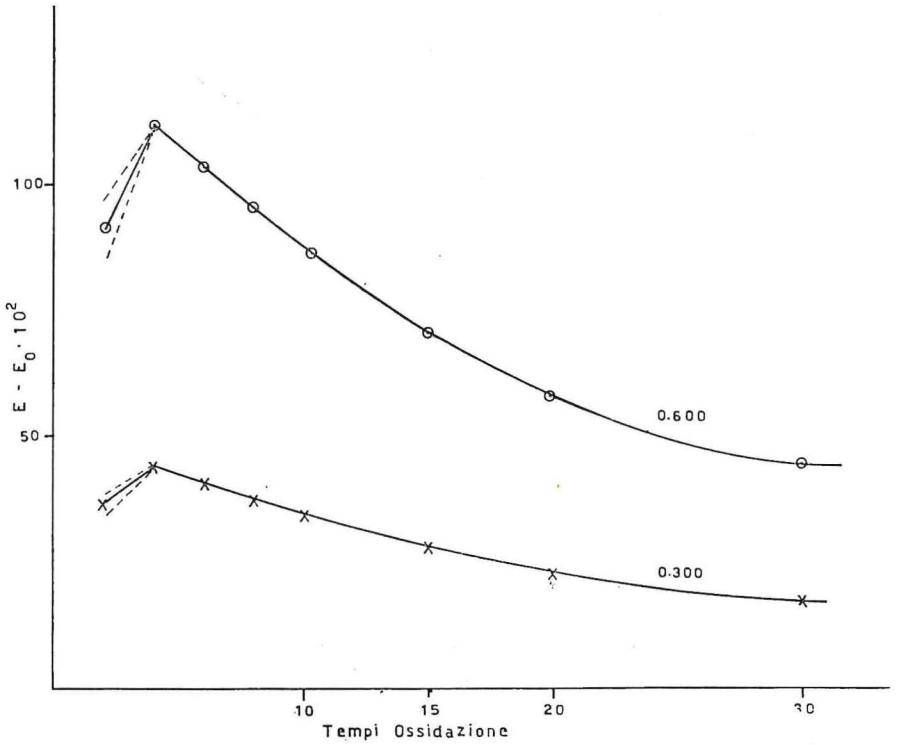


Figura 2 - In ordinata sono riportate le estinzioni, in ascissa i tempi di ossidazione da 2' a 30' per due soluzioni.

X : 0.300 ml CH_3OH % ml C_2H_5OH

○ : 0.600 ml CH_3OH % ml C_2H_5OH

Anche la scelta del tempo di ossidazione di 4' è soggetta a critica in quanto una leggera variazione del tempo, a destra e a sinistra del vertice del grafico 2, provoca una variazione notevole nella quantità di CH_3OH ossidato. Non a torto Jacquin e Tavernier (15) hanno proposto i 20'.

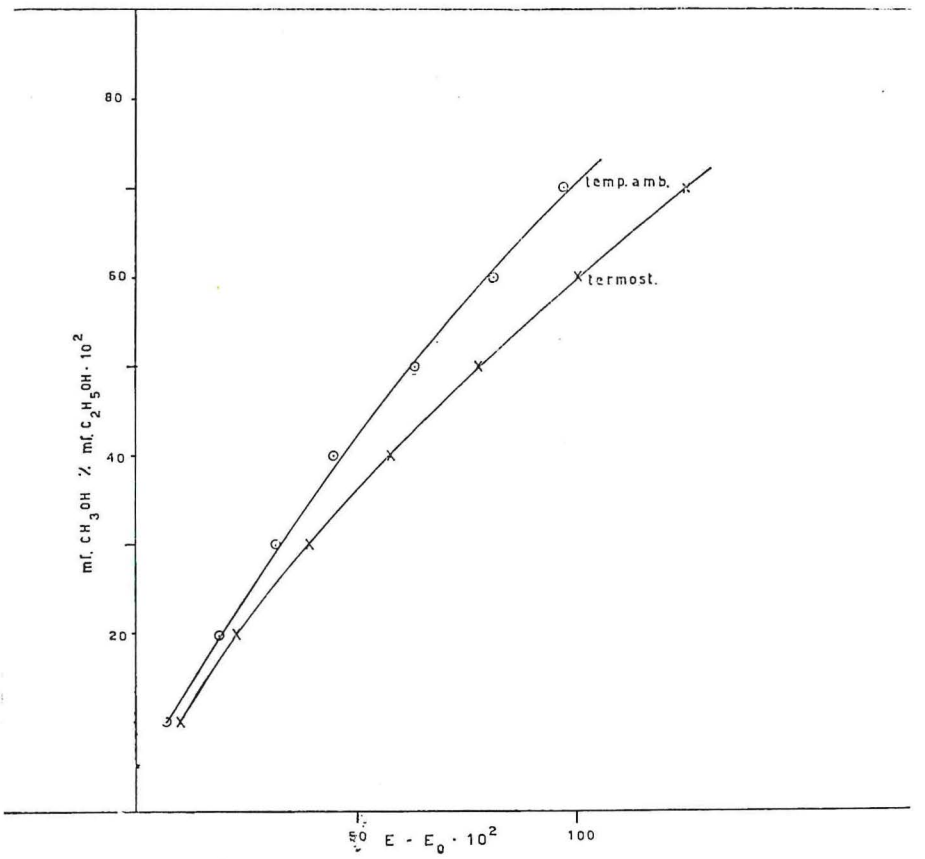


Figura 3 - INFLUENZA DELLA TEMPERATURA DI OSSIDAZIONE.

×: Curva ottenuta a 20°C, con tempo di ossidazione di 4'.

○: Curva ottenuta a temperatura ambiente con tempo di ossidazione di 4'.

D'altronde non ci si è voluti staccare troppo dalla metodica ufficiale, nè spingere troppo i tempi di ossidazione, onde evitare una degradazione della reazione e possibili perdite dei prodotti volatili.

L'operazione è stata condotta in termostato a 20° C, agitando le singole provette con una certa regolarità, onde disperdere il calore di soluzione dell'acido solforico aggiunto.

Come si può vedere dal grafico di figura 3, in termostato si ottengono risultati più costanti e maggiori, a parità di contenuto in CH_3OH.

Ciò è dovuto al fatto che la temperatura ambiente (15-16° C) era inferiore a quella del termostato e che la reazione $CH_3OH \rightarrow CH_2O$, decorre con rendimento maggiore col crescere della temperatura nell'intervallo 15° $\rightarrow$ 20° C (gradiente positivo).

La fucsina decolorata con carbone è risultata un po' più reattiva della fucsina preparata secondo il metodo Tavernier Jacquin (15). A parità di contenuto in metanolo l'intensità del colore è risultata abbassata nel secondo caso.

I tempi di aggiunta dei reattivi sono stati standardizzati secondo lo schema:

Tempi		
0	—	1 ml di H_2SO_4
30"	—	5 ml di KM_nO_4
4'30"	—	1 ml di $H_2C_2O_4$
4'45"	—	1 ml di H_2SO_4

Nella lettura dei campioni si è usato il colorimetro spettrofotometro Spectronic 20 della Bausch & Lomb, alla lunghezza d'onda di 580 mμ (zona di massimo assorbimento), lasciando passare cinque ore dall'aggiunta della soluzione di fucsina.

Ogni gruppo di sei campioni di vino veniva letto ripetendo ogni volta per lo meno cinque punti della curva densità ottica — alcole metilico in ml/100 ml di alcole etilico, onde spingere al massimo la precisione delle misure. Ciò era necessario dato che la fucsina perde costantemente di attività con l'invecchiamento.

Si deve ammettere purtroppo che, nonostante tutte queste precauzioni, il metodo non consente una precisione notevole.

Come sarà dimostrato anche in seguito, il difetto principale è insito nell'ossidazione del CH_3OH a CH_2O, in ambiente acido per H_2SO_4, suggerita da Bertrand e Silberstein. L'ossidazione nel metodo ufficiale avviene con 50 mg di KM_nO_4 / 7 ml di soluzione, mentre Jacquin e Tavernier usano 24 mg di KM_nO_4 2,4 ml con H_3PO_4.

Inoltre il grafico delle densità ottiche di soluzioni a concentrazione crescente di formaldeide, è rappresentato da una linea curva e non da una retta (16).

Nel caso della determinazione del metanolo, la proporzionalità tra estinzione e concentrazione, presuppone una costanza di rendimento della reazione di ossidazione: alcole metilico $\rightarrow$ formaldeide.

Ci è parso opportuno verificare fino a che punto il rendimento di ossidazione dell'alcole metilico, con il metodo ufficiale, poteva essere considerato costante col variare del rapporto $\frac{C_2H_5OH}{CH_3OH}$. La resa in CH_2O si può dedurre dalla reazione:

$$5\ CH_3OH + 2\ KM_nO_4 + 3\ H_2SO_4 \rightarrow 5\ HCOH + 2\ M_nSO_4 + K_2SO_4 + 8\ H_2O.$$

In base ad essa 32 μg di CH_3OH danno per ossidazione 30 μg di HCOH.

In effetti col tempo di ossidazione di 4' non si avranno 30 μg di HCOH per 32 μg di CH_3OH, ma una certa quantità inferiore che, rapportata a 30, darà il rendimento. Per stabilire questo parametro, si è costruita una curva standard di aldeide formica da 0 a 140 μg/ml (si è partiti da una soluzione madre di cui si è determinato il titolo) e contemporaneamente, onde evitare una perdita di colore dovuta allo invecchiamento della fucsina, si è costruita, nelle identiche condizioni standard, una curva di taratura da 0 a 0.750 di metanolo % ml di etanolo, corrispondenti ai valori della colonna 3 in μg/ml, riportati nella tabella 1.

TABELLA 1

	CH_3OH ml % ml di C_2H_5OH	CH_3OH μg/ml	Valori trovati in μg/ml	Rendimento %
1	0.100	71.2	36	54
2	0.150	106.8	48	48
3	0.200	142.5	60	45
4	0.250	178.1	70	42
5	0.300	213.7	84	42
6	0.350	249.3	94	40
7	0.400	284.9	105	39
8	0.450	320.5	114	38
9	0.500	356.2	127	38
10	0.550	391.8	140	38
11	0.600	427.4	149	37
12	0.650	463.0	160	37
13	0.700	498.6	169	36
14	0.750	534.3	174	35

Le estinzioni delle soluzioni a contenuto crescente in CH_3OH, lette sul diagramma dell'aldeide formica, danno i valori effettivi in μg / ml di CH_2O presenti (colonna 4 della tabella 1). Questi valori rapportati ai teorici ($\frac{30}{32}$ x μg di CH_3OH) danno i rendimenti effettivi della tabella 1.

Col tempo di ossidazione di 4', i valori di rendimento sono relativamente costanti (nettamente più regolari che col tempo di ossidazione di 2' e non riportati) e sono maggiori verso i valori più bassi di CH_3OH.

Ciò è dovuto al minore rapporto $\frac{\text{metanolo}}{\text{etanolo}}$ verso i primi termini della serie, in quanto minore è la quantità di CH_3OH da ossidare.

Dalla tabella 1 comunque compare come il rendimento di ossidazione non è indipendente dal rapporto $\frac{\text{metanolo}}{\text{etanolo}}$.

Al fine di mettere in evidenza la relazione che lega la reazione di ossidazione a tale rapporto, si sono costruite due serie di soluzioni tali da contenere 284.8 e 142.5 μg di CH_3OH / ml di soluzione , e un tasso progressivo di C_2H_5OH: 2 - 4 - 6 - 8 - 10 - 12 - 14 - 16%.

Il rapporto $\frac{CH_3OH}{C_2H_5OH}$ variava rispettivamente da 9.10^{-3} a $1.29 \cdot 10^{-3}$ in ogni ml della soluzione con 142.5 μg di CH_3OH/ml, e da $18 \cdot 10^{-3}$ a $2.6 \cdot 10^{-3}$ in ogni ml della soluzione con 284.8 μg/ml.

Le letture riportate nel grafico di figura 4, hanno l'andamento di due curve con un massimo intorno a 4.5% in C_2H_5OH.

Si comprende come nelle condizioni di ossidazione della metodologia ufficiale, c'è un *optimum* di rendimento intorno a quel rapporto metanolo/etanolo. A sinistra e a destra del massimo i valori dell'estinzione decrescono rapidamente.

Il metodo ufficiale consiglia di operare con il 9% di C_2H_5OH, e dal diagramma si deduce che un eventuale allontanamento da tale

TABELLA 2

N.	Zona di produzione	Tipo di vino	Note sulla vinificazione	Anidr. solfor. SO_2 mg/L	Estratto secco ded. zuccheri g/L	Alcole svolto ml/100 ml	Alcole compl. ml/100 ml	Alcole metilico ml/100 ml di alcole etil.
	ZONA DI BUTTRIO, MANZANO etc.							
1	Caminetto di Buttrio	Merlot	svinato dopo 2 giorni	15	26.50	8.97	9.00	0.246
2	Caminetto di Buttrio	Merlot	——	8	22.95	8.85	8.88	0.346
3	Caminetto di Buttrio	Merlot	svinato dopo 2 giorni	12	23.50	8.25	8.33	0.244
4	Vicinale di Buttrio	Tocai	svinato dopo 1 giorno	115	17.18	9.75	9.88	0.112
5	Vicinale di Buttrio	Merlot e Refosco	svinato dopo 1 giorno	45	25.20	9.90	9.95	0.106
6	Ronchi di Buttrio	Merlot	svinato dopo 2 giorni	12	22.30	12.55	12.88	0.100
7	Ronchi di Buttrio	Cabernet	svinato dopo 2 giorni	19	25.70	13.00	13.06	0.115
8	Ronchi di Buttrio	Tocai	svinato dopo 1 giorno	38	19.60	11.20	11.25	0.100
9	Buttrio	Merlot	svinato dopo 4 giorni	9	23.00	9.59	9.65	0.195
10	Vicinale di Buttrio	Merlot	svinato dopo 1 giorno	13	23.56	11.73	11.78	0.095
11	Buttrio	Verduzzo	svinato dopo 1 giorno	8	26.50	10.98	11.28	0.065
12	Buttrio	Tocai	svinato dopo 1 giorno	45	21.50	12.20	12.68	0.060
13	Buttrio	Pinot bianco	svinato dopo 1 giorno	17	25.10	13.93	14.12	0.080
14	Buttrio	Verduzzo	svinato dopo 1 giorno	82	27.76	12.56	13.64	0.072
15	Vicinale di Buttrio	Tocai	——	35	18.74	11.07	11.09	0.086
16	Caminetto di Buttrio	Verduzzo	——	8	19.33	10.71	10.76	0.020
17	Buttrio	Tocai	svinato dopo 1 giorno	37	21.63	9.64	9.69	0.170
18	Manzano	Verduzzo	svinato dopo 2 giorni	36	21.12	10.19	10.26	0.130
19	Buttrio	Tocai	svinato dopo 2 giorni	15	19.54	11.10	11.30	0.100
20	Buttrio	Merlot	svinato dopo 2 giorni	119	28.02	12.10	12.19	0.170
21	Manzano	Tocai	——	59	20.18	10.16	10.21	0.125
22	Buttrio	Verduzzo	——	141	26.70	8.87	11.68	0.050
23	Percoto	Merlot	——	13	24.76	11.90	11.93	0.245
24	Pavia di Udine	Merlot	——	22	23.26	12.15	12.27	0.136

ZONA DI CIVIDALE, SPESSA, PREPOTTO

25	Spessa	Merlot	svinato dopo 2 giorni	32	25.81	13.35	13.42	0.155
26	Albana	Tocai	svinato dopo 2 giorni	27	21.90	13.09	13.15	0.096
27	Albana	Merlot	svinato dopo 2 giorni	13	23.96	13.09	13.15	0.120
28	Albana	Tocai	svinato dopo 1 giorno	168	24.94	11.58	11.65	0.125
29	Prepotto	Merlot	——	77	28.52	13.42	13.51	0.145
30	Spessa	Tocai	——	14	23.64	7.80	8.64	0.060
31	Spessa	Verduzzo	——	16	23.40	7.99	8.66	0.060
32	Spessa	Merlot	——	87	22.21	9.20	9.31	0.246
33	Spessa	Merlot	svinato dopo 2 giorni	27	27.43	11.10	11.13	0.220
34	Spessa	Verduzzo	——	91	23.44	12.10	12.19	0.115
35	Torlano	Merlot	——	47	24.10	12.00	12.11	0.180
36	Torlano	Pinot bianco	——	72	19.59	13.10	13.13	0.045
37	Torlano	Tocai	——	65	19.30	13.30	13.35	0.055

ZONA DI NIMIS, TORLANO, SEDILIS

38	Nimis, Torlano, Sedilis	Ramandolo	svinato dopo 1 giorno	13	22.92	10.75	11.90	0.045
39	Nimis, Torlano, Sedilis	Ramandolo	svinato dopo 1 giorno	60	24.91	9.23	10.53	0.030
40	Nimis, Torlano, Sedilis	Ramandolo	svinato dopo 1 giorno	14	24.60	8.94	10.84	0.050
41	Nimis, Torlano, Sedilis	Ramandolo	svinato dopo 1 giorno	10	22.78	10.83	12.17	0.045
42	Nimis, Torlano, Sedilis	Ramandolo	svinato dopo 1 giorno	13	27.06	11.39	15.32	0.045
43	Nimis, Torlano, Sedilis	Rosso (Refosco, Merlot, Verduzzo)	svinato dopo 6 giorni	18	24.62	9.25	9.31	0.280
44	Nimis, Torlano, Sedilis	Rosso (Ref. Merl. Ver.)	svinato dopo 6 giorni	18	24.43	10.45	10.90	0.132
45	Nimis, Torlano, Sedilis	Rosso (Ref. Merl. Ver.)	svinato dopo 6 giorni	13	24.96	10.50	10.78	0.145
46	Nimis, Torlano, Sedilis	Rosso (Ref. Merl. Ver.)	svinato dopo 6 giorni	13	24.20	10.40	10.48	0.135
47	Nimis, Torlano, Sedilis	Rosso (Ref. Merl. Ver.)	svinato dopo 6 giorni	10	25.48	9.30	9.46	0.113
48	Nimis, Torlano, Sedilis	Rosso (Ref. Merl. Ver.)	svinato dopo 6 giorni	10	23.22	10.60	10.90	0.102
49	Nimis, Torlano, Sedilis	Rosso (Ref. Merl. Ver.)	svinato dopo 6 giorni	10	24.62	12.35	12.73	0.140

ZONA DI PRADAMANO, PALMANOVA, CERVIGNANO, AQUILEIA

50	Pradamano	Tocai	vinificato in bianco	120	22.30	11.05	11.10	0.170
51	Pradamano	Merlot	velocepressa	115	23.44	10.20	10.36	0.535
52	Pradamano	Merlot	I torchio	125	26.13	9.90	10.05	0.475

N.	Zona di produzione	Tipo di vino	Note sulla vinificazione	Anidr. solfor. SO_2 mg/L	Estratto secco ded. zuccheri g/L	Alcole svolto ml/100 ml	Alcole compl. ml/100 ml	Alcole metilico ml/100 ml di alcole etil.
53	Paradamano	Merlot	II torchio	130	37.99	8.75	8.92	0.510
54	Aquileia	Bianco misto	svinato dopo 1 giorno	80	22.35	11.40	11.49	0.175
55	Aquileia	Rosso misto	svinato dopo 3 giorni	98	24.32	13.30	13.40	0.165
56	Aquileia	Merlot+Cabernet	svinato dopo 2 giorni	111	26.20	13.09	13.25	0.150
57	Aquileia	Tocai+uvaggi vari	fermentato in bianco	119	25.23	11.85	11.99	0.092
58	Saciletto (Cervignano)	Cabernet Franc	svinato dopo 6 giorni	198	28.79	12.30	12.35	0.165
59	Saciletto (Cervignano)	Cabernet Sauv.	svinato dopo 6 giorni	128	22.72	10.80	11.01	0.066
60	Cervignano	Merlot	I e II torchio	180	32.30	9.50	9.55	0.370
61	Cervignano	Merlot	I e II torchio	150	31.40	8.75	8.80	0.315
62	Aquileia	Tocai	I e II torchio	175	34.30	9.00	9.05	0.576
63	Aquileia	Tocai	I e II torchio	190	35.20	9.05	9.07	0.550
	ZONA DI BERTIOLO							
64	Bertiolo	Merlot	svinato dopo 6 giorni	120	24.35	13.30	13.39	0.155
65	Bertiolo	Tocai	svinato dopo 2 giorni	88	20.80	13.05	13.12	0.107
66	Bertiolo	Nostrano	svinato dopo 6 giorni	132	25.70	10.40	10.46	0.204
67	Bertiolo	Cabernet	svinato dopo 6 giorni	115	20.30	14.95	15.04	0.140
68	Bertiolo	Pinot bianco	svinato dopo 2 giorni	70	19.60	12.50	12.54	0.107
69	Bertiolo	Cabernet	svinato dopo 6 giorni	120	23.50	14.15	14.23	0.135
70	Bertiolo	Cabernet	svinato dopo 6 giorni	135	24.20	12.55	12.61	0.136
71	Bertiolo	Cabernet	svinato dopo 6 giorni	115	25.30	12.20	12.28	0.155
72	Bertiolo	Tocai	svinato dopo 2 giorni	95	18.71	13.00	13.06	0.104
73	Bertiolo	Pinot grigio	svinato dopo 2 giorni	76	19.15	11.85	11.90	0.088
74	Bertiolo	Bianco	II torchio	105	30.20	8.80	8.85	0.495
75	Bertiolo	Rosso	II torchio	88	32.15	8.90	8.97	0.447
	ZONA DI RAUSCEDO							
76	Rauscedo	Merlot-Lamb.-Refosco	velocepressa	150	29.83	8.10	8.24	0.520
77	Rauscedo	Merlot-Lamb.-Refosco	Pressa idraulica 250 Atm.	160	31.37	8.00	8.11	0.590
78	Rauscedo	Tocai	svinato dopo 2 giorni	74	20.15	12.80	12.84	0.130

79	Rauscedo	Tocai	svinato dopo 2 giorni	70	21.00	12.85	12.92	0.140
80	Rauscedo	Merlot	svinato dopo 4 giorni	110	24.30	12.80	12.87	0.155
81	Rauscedo	Merlot	svinato dopo 6 giorni	70	25.68	13.05	13.11	0.165
82	Rauscedo	Tocai	svinato dopo 2 giorni	45	20.15	9.05	9.11	0.160
83	Rauscedo	Merlot	svinato dopo 6 giorni	106	26.40	9.25	9.31	0.195
84	Rauscedo	Lambrusco e Refosco	svinato dopo 6 giorni	120	27.35	10.60	10.67	0.150
85	Rauscedo	Uve varie	filtrato di feccia del 1° trav.	165	34.00	8.55	8.66	0.470
86	S. Giorgio della Richinv.	Merlot	svinato dopo 2 giorni	70	26.30	13.20	13.27	0.135
87	Arzene	Merlot	svinato dopo 2 giorni	82	22.60	9.60	9.64	0.190
88	Valvasone	Malvasia	svinato dopo 2 giorni	64	19.03	12.30	12.34	0.080
	ZONA DI S. VITO AL TAGL., RAMUSCELLO, CASARSA							
89	Ramuscello	Merlot e Refosco	——	62	25.85	9.35	9.43	0.180
90	Ramuscello	Merlot	——	84	22.32	12.10	12.19	0.106
91	Ramuscello	Merlot	——	105	24.20	11.45	11.53	0.135
92	Ramuscello	Merlot	——	65	23.60	9.75	9.79	0.170
93	Ramuscello	Tocai+uvaggi	——	70	21.30	9.95	10.00	0.174
94	Ramuscello	Tocai	——	45	22.44	10.50	10.55	0.160
95	S. Vito al Tagliamento	Merlot	svinato dopo 3 giorni	80	26.45	9.15	9.21	0.170
96	S. Vito la Tagliamento	Tocai	fermentato in bianco	42	21.90	8.55	8.59	0.175
97	S. Vito al Tagliamento	Merlot	svinato dopo 2 giorni	70	23.50	8.80	8.85	0.160
98	S. Vito al Tagliamento	Merlot	svinato dopo 2 giorni	88	23.85	9.35	9.37	0.154
99	S. Vito al Tagliamento	Merlot	svinato dopo 3 giorni	70	26.70	8.65	8.74	0.175
100	S. Vito al Tagliamento	Merlot	svinato dopo 2 giorni	45	24.95	9.20	9.24	0.160
101	S. Vito al Tagliamento	Merlot	svinato dopo 2 giorni	115	25.05	9.10	9.15	0.170
102	S. Vito al Tagliamento	Cäbernet	svinato dopo 1 giorno debolissimo di colore	86	24.35	13.90	14.01	0.090
103	S. Vito al Tagliamento	Tocai	fermentato in bianco	40	18.75	8.45	8.48	0.155
104	S. Vito al Tagliamento	Pinot grigio	fermentato in bianco	35	19.90	9.10	9.14	0.140
105	S. Vito al Tagliamento	Müller Th., Malvasia, Riesling	fermentato in bianco	60	21.30	8.90	8.95	0.175
106	S. Vito al Tagliamento	Merlot II torchio	ripassato su vinacce vergini	93	28.40	7.70	7.76	0.290
107	Casarsa	Merlot	svinato dopo 2 giorni	120	23.70	10.40	10.46	0.155
108	Casarsa	Merlot	velocepressa e 1 torchio	135	25.71	8.10	8.15	0.325
109	Casarsa	Merlot	svinato dopo 4 giorni	115	27.30	9.30	9.35	0.195
110	Casarsa	Merlot	svinato dopo 4 giorni	82	27.85	9.10	9.17	0.245
111	Casarsa	Tocai	fermentato in bianco	88	19.72	12.85	12.97	0.130

percentuale, si traduce in un errore tanto più elevato quanto maggiore è il contenuto in CH_3OH della soluzione da esaminare (curva superiore nel grafico di figura 4).

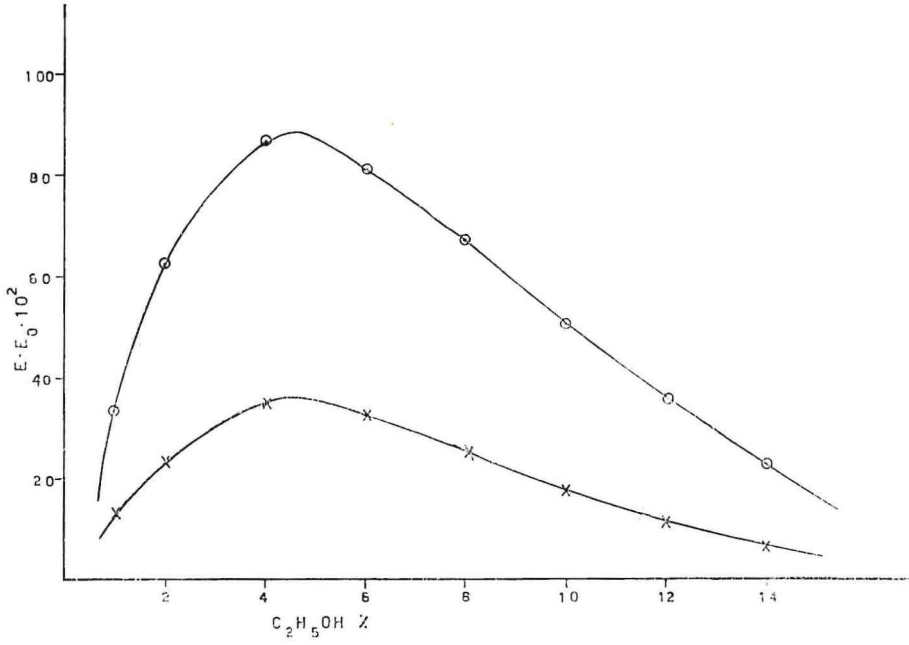


Figura 4 - INFLUENZA DEL CONTENUTO PERCENTUALE IN C_2H_5OH

○: si riferisce a una soluzione con 284.8 μg/ml di CH_3OH.

×: si riferisce a una soluzione con 142.5 μg/ml di CH_3OH.

In ordinata sono riportate le estinzioni, in ascissa le percentuali di C_2H_5OH.

Ne viene di conseguenza che, nelle condizioni di lavoro suggerite dal metodo ufficiale, non si può leggere in alcun modo una estinzione di un campione di vino con una percentuale in C_2H_5OH diversa da 9, sul diagramma ottenuto con soluzioni al 9% di alcole etilico.

Si rileva infine che intorno al 4.5% di C_2H_5OH la sensibilità del metodo ne risulterebbe aumentata.

Discussione dei risultati

Come risulta dalla tabella 2, i 111 campioni di vino riportati sono stati suddivisi in sette zone, più per comodità di riferimento e di prelevamento, che non per un particolare criterio.

Le zone di Cividale, Spessa, Prepotto, Buttrio e Nimis corrispondono al complesso eocenico orientale e comprendono i vini pregiati

caratterizzati da un aroma più delicato, basse acidità, elevato tenore alcolico e un estratto che raramente raggiunge i valori superiori.

Sono vini provenienti da piccoli poderi dove la vinificazione viene operata con tecniche tradizionali, il contatto con le vinacce viene ridotto al minimo anche per i vini rossi e dove i trattamenti, con composti a base di zolfo, sono ridotti a una dose massima di 5-10 g di metabisolfito di potassio. Significativo a questo riguardo è il contenuto in SO_2 della zona di Nimis, dove il vino finito non supera i 20 mg/L.

In queste zone la torchiatura viene operata nella generalità con torchi a mano o semiautomatici, su uve diraspate. Le torchiature sono limitate alle pressioni massime raggiungibili con i vecchi torchi, dato che per nessuno dei campioni raccolti si è usato il torchio idraulico o la velocepressa. Tale attrezzatura del resto è incompatibile con l'esiguità delle piccole cantine.

I vini rossi della zona orientale hanno un contenuto medio di 0.178 ml, i bianchi di 0.078 ml di metanolo % ml di etanolo.

Come si può constatare il tenore in metilico è basso se confrontato con alcuni dati pubblicati in Italia (17, 18, 19).

Ciò è senz'altro da porre in relazione con il sistema di vinificazione adottato, essendo ormai accertato che il lungo periodo di contatto del mosto con le vinacce è il principale responsabile della solubilizzazione delle sostanze pectiche e degli enzimi pectolitici, come risulta dalle ipotesi del Fellemberg, convalidate dalle classiche esperienze già citate.

Nella zona collinare di Buttrio il campione 16, un Verduzzo, ha registrato il contenuto minimo assoluto di tutta la tabella. Fa eccezione il numero 2, un Merlot di Buttrio con 0.346 di metanolo %. Però trattavasi di un vino sottoposto erroneamente, dato che le uve erano alterate, a macerazione prolungata. Non è escluso del resto che le muffe siano responsabili di una maggiore attività pectolitica nei mosti (20, 21). La materia colorante del vino era completamente precipitata al momento dell'analisi, a causa della « casse ossidasica ».

Ai bassi contenuti in metanolo del Friuli orientale, fa eccezione il campione 43, raccolto nella zona di Nimis, che supera il minimo legale. Bisogna notare però che nel territorio di Nimis non è raro, e ciò per i vini neri, che si prolunghi notevolmente il periodo di macerazione delle vinacce col mosto e ciò al fine di dare più corpo e più colore al vino. Il valore di 0.280 in metanolo del N. 43 potrebbe essere messo in relazione con una svinatura ritardata.

Passando a prendere in esame la zona successiva a quella di Nimis, si rilevano tenori più elevati in metanolo e ciò si deve mettere in relazione, da un lato con le caratteristiche generali dei vini, dall'altro con le tecniche di vinificazione. In pianura si sono usate quantità notevoli di SO_2 e si sono prolungati i periodi di contatto delle vinacce, onde

ottenere dei vini più ricchi di corpo e di colore. La fase artigianale delle piccole cantine, ha lasciato il posto alle tecniche più complesse adottate negli enopoli, dove le rese vengono spinte al massimo.

Si è pensato di includere nel campionamento anche i vini ottenuti con una torchiatura spinta, onde vedere fino a che punto la lavorazione poteva influire sul contenuto in metanolo. I campioni 51, 52, 53, provenivano da uve Merlot guaste per un buon 20% e si riferivano a un vino di velocepressa (torchiatura soffice), al 1° e al 2° torchio rispettivamente. E' interessante notare che anche la leggera pressione, cui è stata sottoposta la vinaccia del campione 51, ha dato un vino con un contenuto in metanolo elevato e quasi pari al 1° e 2° torchio della medesima partita.

I campioni 60, 61, 62 e 63, raccolti nella zona di Aquileia, erano torchiati di vinaccia o sopratorchiati e non può meravigliare l'elevato tenore in metilico, e lo stesso dicasi dei campioni n. 74 e 75 della zona di Bertiolo. A conferma di quanto è stato rilevato per i numeri 51, 52 e 53 di Pradamano, si rileva lo stesso fenomeno nei campioni 76 e 77. Il n. 76 ha avuto la seguente lavorazione: pigia-diraspatura, macerazione della vinaccia per 6,7 giorni e spremitura a un quarto della pressione massima della velocepressa (spremitura soffice). Il n. 77 è stato ottenuto con una torchiatura delle stesse vinacce del campione n. 76, a 250 atmosfere in torchio idraulico, ed ha un contenuto in metanolo di poco superiore al precedente.

Sembra si debba concludere che la cessione del metanolo da parte delle vinacce sia indipendente dalla pressione, almeno per il processo di lavorazione dei campioni n. 51, 52, 53 e 76, 77, e cioè: macerazione delle vinacce e spremitura delle stesse con velocepressa o con torchio idraulico dopo svinatura. Se mai ce n'era bisogno, si ha un'ulteriore conferma che il metanolo è soltanto funzione del tempo di macerazione delle vinacce col mosto. Non si può escludere però che una energica azione meccanica di spappolamento della vinaccia, prima di essere messa a contatto col mosto, abbia un'influenza sul « tasso limite » del metanolo, nel senso di un aumento dello stesso, essendo la PE adsorbita sul complesso cellulare (22).

Nella zona di Casarsa ci si è procurati un campione di Merlot 2° torchio tagliato con vino fiore, un campione di vino di velocepressa e 1° torchio, dal contenuto in metilico abbastanza basso, se si confronta con altri torchiati, pur essendo al di sopra dei limiti di legge.

Dei campioni di velocepressa, di 1° e 2° torchio idraulico, si sono eseguite le analisi generali che per brevità non si riportano e, a parte i valori elevati in estratto, ceneri ed alcalinità delle ceneri, il rapporto

estratto/ceneri e l'indice di alcalinità sono risultati entro i limiti di legge. Questo fatto è del resto in accordo con quanto era stato rilevato dal Vitagliano (23) e dal Garoglio (24).

E' chiaro d'altronde che un contenuto in metanolo decisamente superiore ai limiti, rimane un elemento valido a differenziare i torchiati dai vini ottenuti con i vecchi torchi a vite.

Nella tabella 3 sono riportate le medie dei 97 campioni, escludendo i prodotti ottenuti dalla velocepressa e dai torchi idraulici, dato che la finalità del lavoro era di mettere in luce i valori del metanolo nei vini ottenuti con tecniche tradizionali.

TABELLA 3

	Complessivi 97 campioni	Vini bianchi 43	Vini rossi 54
Media Alcole Metilico in ml% ml di alcole etilico	0.136	0.102	0.164
Deviazione standard	± 0.057	± 0.046	± 0.051
Errore standard	± 0.0058	± 0.0070	± 0.0070

Se si adotta per l'alcole metilico il riferimento in ml/L suggerito dal Mascolo, le medie per i 97 campioni complessivi, per i 43 bianchi e per i 54 rossi, diventano rispettivamente: 0.148, 0.111, 0.177.

Anche se col calcolo in ml per litro di vino i vini friulani, a causa del più alto grado alcolico, ne vengono a perdere, contrariamente ai vini emiliani, resta invariata la conclusione che i primi sono in linea di massima entro i limiti proposti dal D.P.R. « 12 Febbraio 1965 ».

Nella tabella 4 vengono riportate le medie, analogamente alla tabella 3, riferendo l'alcole metilico in mg/litro di vino, in conformità a quanto si è sempre fatto in Francia, tenendo anche presente una nuova metodica di determinazione del metanolo.

TABELLA 4

	Complessivi 97 campioni	Vini bianchi 43	Vini rossi 54
Media Alcole metilico in mg/L	117	88	140
Deviazione standard	± 45	± 38	± 36
Errore standard	± 4.5	± 5.8	± 4.9

Le medie di quest'ultima tabella non differiscono gran che da quelle riportate dal Bertrand in Francia (9) per i vini bianchi e rossi: 63 e 152 mg/L rispettivamente.

Il valore in alcole metilico 0.136, media trovata per i vini friulani nell'annata 1965, non è molto lontano dallo 0.120 riportato dal Pisanti (25) per i vini dell'Irpinia, ottenuti da uve diraspate a breve macerazione.

I vini bianchi friulani hanno nel loro complesso un basso valore in metanolo e così anche i vini rossi, quest'ultimi a causa del particolare tipo di vinificazione, a breve macerazione, adottato.

Non bisogna però dimenticare, a conclusione della nostra ricerca, che con particolari condizioni delle uve, cioè in annate sfavorevoli, e con eccezionali tempi di macerazione, come si è riscontrato per i campioni 2 e 43 rispettivamente, si possono ottenere valori eccedenti i limiti imposti dalla legge.

Riassunto

Al fine di appurare entro quali limiti può variare il contenuto in alcole metilico, si è compiuta una indagine su 54 campioni di vino rosso, e 43 di vino bianco, raccolti in sette zone del Friuli.

Nel corso del lavoro si è ritenuto opportuno fare una analisi critica della tecnica di determinazione del metanolo, secondo i metodi ufficiali italiani, e mettere in luce le possibilità ed i limiti del metodo.

I vini, sicuramente genuini perchè prelevati nella maggioranza dei casi presso piccole aziende, hanno dato una media di 0.102 ± 0.007 per i bianchi, di 0.164 ± 0.007 per i rossi. I valori medi espressi in

mg/L analogamente a quanto fanno gli autori francesi, diventano 88 ± 6 e 140 ± 5 per i vini bianchi e rossi rispettivamente.

Anche se la maggioranza dei campioni cade entro i termini dello 0.20 e dello 0.25% in metanolo, non si può escludere che, con uve anormali e con una svinatura eccezionalmente ritardata, si possano superare i limiti imposti dalla legge.

Summary

To find the distribution of methanol content in Friuli's wines, 54 samples of red wine and 43 of white wine were analysed.

In the context a critical study is reported of the procedure of « Metodi ufficiali italiani » for determining methanol in wines.

The official method could be exact only if the procedure is very well standardized.

The wines were certanly genuine because sampled near small farms. The average methanol content was 0.102 ± 0.007 ml % ml of ethanol for white wines, and 0.164 ± 0.007 for red wines.

The same averages expressed in mg/L are 88 ± 6 and 140 ± 5 respectively.

A long delay in drawing off the must in red wines making, and the the presence of rottennes in the grapes, are responsible of higher values in the methanol content, sometimes exceeding 0.25%.

Si ringrazia l'Ispettorato agrario di Udine per la gentile collaborazione data nel prelevamento dei campioni.

BIBLIOGRAFIA

1 REINTJES H. J. - L'alcole metilico nei succhi di frutta - *Succhi di frutta e bev. gass.* 3, 131-135, 1962.

2 DÉROBERT L. - Intoxications et maladies professionelles - Ed. médicales Flammarion 22, rue de Vaugirard, Paris VI, 1954.

3 The chemical index of chemicals and drugs - Rahway N. J., U.S.A. Merck & Co. Inc., 1960.

4 BOUSCHARAIN H., BOIVIN R. - Le méthanol dans les jus de fruits - *Ann. Fals. Exp. Chim.,* 676, 188-192, 1967.

5 FELLENBERG T. - *Bioch. Z.* 85, 45, 1918.

6 BRAVERMAN J. B. S. - Introduction to the Biochemistry of foods - Elsevier Publ. Co., New York, 1963.

7 SCHNEIDER G. G., BOCK H. - Über die Konstitution der Pektinstoffe - *Ber. deut. chem. Ges.,* 70B 1617, 1937.

8 MARTEAU G., SCHEUR J., OLIVIERI C. - Cinetique de la liber. enzym. du méthanol au cours des transf. pectol. du raisin - *Ann. Techn. Agr.,* 10, 2, 161-183, 1961.

9 BERTRAND G., SILBERSTEIN L. - Recherches sur le méthanol contenu dans le vin - *Ann. Techn. Agr.,* I, 205, 1952.

10 FRANCOT P., GEOFFROY P. - Le méthanol dans les jus des fruits - *Rev. Ferm. Ind. Alim.,* 279, 1956.

11 FLANZY M., LOISEL Y. - Evol. des pectines dans les boissons et produc. du méth. - *Ann. Techn. Agric.,* 3, 311, 1958.

12 FLANZY M., BOUZIGUES L. - Pectines et méth. dans les moûts et les vins - *Ann. Techn. Agric.* 1, 59, 1959.

13 KERTESZ Z. I. - The pectic substances - Interscience Publishers, New York, 1951.

14 Metodi Ufficiali d'analisi, I Ristampa, Min. Agr. & For., Istituto Poligrafico dello Stato, Roma, 1958.

15 JACQUIN P., TAVERNIER J. Microdosage colorimétrique du méthanol - *Ann. Techn. Agric.,* 2, 113-136, 1953.

16 HOFFPAUIR C. L., O CONNOR R. T. - *Analyt. Chem.,* 21, 420, 1949.

17 CERUTTI G. - Sull'origine e sul cont. in alc. met. dei vini italiani - *Ann. Sper. Agr.,* Vol. V 2, 330-335, 1951.

18 TAMBURRINI V. - Analisi di acquaviti di vino e di vinacce - *Riv. Vit. Enol.,* 2, 67-70, 1952.

19 MASCOLO A. - Contenuto in alc. met. dei vini prodotti nelle prov. di Modena e Reggio Emilia. - *Riv. di Vit. ed Enol.,* 9, 337-359, 1966.

20 KERTESZ Z. I. - *Journal Biol. Chem.* 121, 589, 1937.

21 FISH V. B., DUSTMAN R. B. - *Journ. Am. Chem. Soc.,* 67, 1155, 1945.

22 MC COLLOCH R. J., MOYER J. C., KERTESZ Z. I. - *Arch. Biochem.* - 10, 479, 1946.

23 VITAGLIANO M., IDINI G. - Indagine sulla comp. dei vini di supertorch. di prov. sarda - *Riv. di Vitic. e di Enol.,* 12, 440-454, 1962.

24 GAROGLIO P. G. - La nuova Enologia - 2ª ediz., Istituto Industrie agrarie, Firenze, 1963.

25 PISANTI A. - Ricerche sul cont. in alcol met. nei vini irpini. - *Riv. di Vit. e di Enol.,* 12, 425-431, 1961.